

PENENTUAN JENIS DAN STATUS KONSERVASI PARI LAYANG-LAYANG YANG DIDARATKAN DI TPI GUNUNG LINGKAS KOTA TARAKAN DENGAN PENDEKATAN MOLEKULER

SPECIES IDENTIFICATION AND CONSERVATION STATUS EVALUATION OF BUTTERFLY RAY LANDED AT THE TPI GUNUNG LINGKAS, TARAKAN CITY WITH MOLECULAR METHODE

Syamsidar Gaffar¹⁾, Sumarlin^{1)*}, M. Gandri Haryono¹⁾, Harisna Pidar¹⁾

Diterima : 18 November 2020

Disetujui : 19 Maret 2021

Afiliasi Penulis:

¹⁾ Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Borneo Tarakan, Kalimantan Utara, Indonesia

Correspondence email:

*sumarlin@borneo.ac.id

ABSTRAK

Pari yang diperdagangkan di Tempat Penampungan Ikan (TPI) Tarakan perlu diketahui jenisnya. Hal ini merupakan langkah awal agar jenis pari yang tergolong dilindungi atau populasinya telah berkurang di alam dapat dihindari untuk diperdagangkan. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengungkap spesies pari layang-layang yang diperdagangkan dari TPI Gunung Lingkas, Tarakan, Kalimantan Utara, dengan menggunakan metode pengidentifikasi secara molekuler (DNA barcoding) dan menentukan status konservasinya. Berdasarkan hasil BLAST, sampel teridentifikasi memiliki kemiripan 99,80% dengan spesies Aetoplatea zonura isolate GZON2. Hasil BOLD-IDS juga memberikan persentase kemiripan sebesar 99,8% dengan spesies Gymnura zonura (sinonim A. zonura). Nilai kemiripan >98% menjelaskan bahwa homologi sekuen berada pada tingkat spesies sehingga sampel yang diidentifikasi merupakan G. zonura. Hasil analisis filogenetik dengan menggunakan tiga metode analisis yaitu NJ, ML, dan ME menempatkan sampel ray-T2, G. zonura, dan G. cf zonura konsisten berada pada kelompok yang sama (monofiletik). Artinya, sampel ray-T2 berkerabat dekat dengan G. zonura. Status konservasi G. zonura terkategori vulnerable (vu) di laman IUCN yang berarti spesies ini sedang menghadapi risiko kepunahan di alam sedangkan status pada CITES masih dalam posisi belum terevaluasi.

Kata kunci: DNA barcoding, pari, Gymnura zonura, Tarakan, Kalimantan Utara

ABSTRACT

It is crucial that the species traded at the Tarakan TPI be revealed to avoid fetching any species whose population is listed as endangered or on the CITES Appendices. This research aimed to uncover the species of butterfly ray traded from TPI Gunung Lingkas, Tarakan, North Kalimantan, deploying the molecular method (DNA barcoding) and its current conservation status. Based on the BLAST result, the sample identified was 99.80% corresponding to the Aetoplatea zonura isolate GZON2. The BOLD-IDS result also affirmed a similarity percentage of 99.8% with the species Gymnura zonura (synonym A. zonura). The similarity value >98% explains that the sequences' homology is at the species level; hence we conclude the sample identified are G. zonura. The phylogenetic analysis results with three analytical methods, namely NJ, ML, and ME, place a sample of ray-T2, G. zonura, and G. cf zonura consistently in the same group (monophyletic) that verified the sample is closely related to G. zonura. The conservation status of G. zonura is fit into the vulnerable (vu) category on the IUCN website, which means that this species is at a chance of extinction in nature. Meanwhile, the status of G. zonura at CITES is remaining not evaluated.

Kata kunci: DNA barcoding, ray, Gymnura zonura, Tarakan, North Kalimantan

Cara Sitasi:

Gaffar S, Sumarlin, M.G. Haryono, H. Pidar. 2021. Penentuan jenis dan status konservasi Pari Layang-Layang yang didaratkan di TPI Gunung Lingkas Kota Tarakan dengan pendekatan molekuler. *Journal of Tropical Biology* 9 (1): 80-87.

PENDAHULUAN

Pari (Kelas Elasmobranchii) terdistribusi secara luas di berbagai perairan, namun tingkat keanekaragaman yang paling tinggi terdapat di

perairan tropis dan Indo-Pasifik [1]. Pari biasa ditangkap untuk keperluan komersil, artisanal, maupun aktivitas wisata perikanan namun jumlah tangkapan yang paling tinggi sebagai hasil sampingan adalah berasal dari perikanan

komersil. Pari sangat rentan terhadap kegiatan penangkapan berlebih dan degradasi habitat karena termasuk organisme dengan karakteristik fekunditas yang rendah, usia produksi yang lama, dan *lifespan* yang panjang [2]. Akibat penangkapan yang berlebih dan dijadikan sebagai target sampingan, populasi predator puncak ini di alam telah berkurang dengan signifikan [3].

Perhatian terhadap dampak penangkapan populasi Elasmobranchii (pari) semakin meningkat sehingga banyak penelitian dilakukan untuk mengembalikan dan melindungi kelompok pari, salah satunya adalah melalui perencanaan pengelolaan yang berkelanjutan [2]. Pengidentifikasi spesies yang akurat merupakan hal yang sangat penting dalam rangka mendesain rencana-rencana pengelolaan dan konservasi perikanan [4]. Namun, dari identifikasi di lapangan pada beberapa pari yang memiliki kekerabatan dekat, seperti pada kelompok Batoidea seringkali sulit untuk diidentifikasi sehingga menyebabkan kesalahan dalam pelaporan mengenai komposisi dan keanekaragaman spesies [5].

DNA *barcoding* adalah suatu metode molekuler identifikasi spesies secara cepat dan akurat [6] pada semua fase hidup, dengan menggunakan urutan nukleotida, contohnya *Cytochrome Oxidase I* (COI) mitokondria. [7] menunjukkan bahwa gen COI dapat membedakan spesies hewan yang memiliki kekerabatan yang dekat. Pendekatan ini telah berhasil dalam membedakan spesies ikan air tawar dan laut [8]. [9] telah membarcode 210 spesies hiu dan pari dari perairan Australia. Hal ini menunjukkan kehandalan pendekatan ini dalam membantu mengatasi masalah taksonomi dan penemuan spesies baru. Penelitian-penelitian taksonomi terkini yang dipadukan dengan penanda molekuler pada spesies Chondrichtyes di berbagai perairan (Australia, Indonesia, Taiwan, dan Argentina) juga telah menyelesaikan masalah yang pelik terkait dengan spesies kompleks, sekaligus dapat menemukan beberapa spesies baru [10].

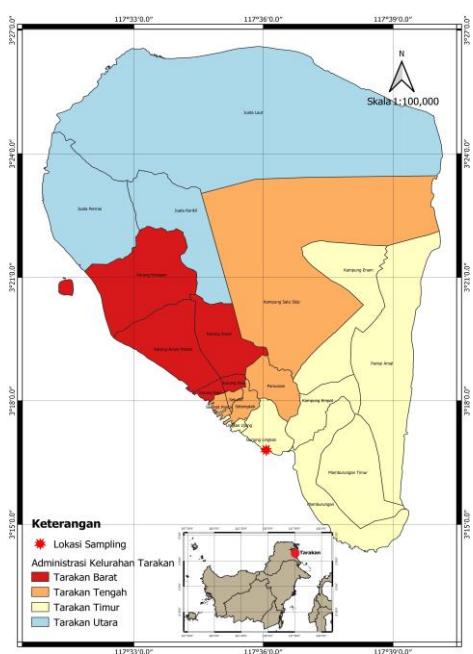
Pari dari perairan Kalimantan Utara yang didaratkan di Tempat Penampungan Ikan (TPI) Kota Tarakan masih dapat ditemukan dan diperjualbelikan tanpa melalui pengidentifikasi yang akurat mengenai kategori spesiesnya. Selama ini, proses pengidentifikasi pari umumnya masih dilakukan berdasarkan karakteristik morfologinya. Jika hanya mengandalkan karakter morfologi, maka akan membuka peluang ketidakakuratan pengidentifikasi,

terlebih jika ditemukan spesies pari yang memiliki kekerabatan yang dekat dengan morfologi yang mirip, seperti pada spesies *stingray* dan *skate* [11] dan diidentifikasi bukan oleh ahli taksonomi pari. Jika perdagangan pari masih berlangsung tanpa mempertimbangkan keberadaan populasinya di alam, salah satunya akibat ketidaktepatan dalam pengidentifikasi, maka lambat laun dapat mengurangi populasi pari di alam. Padahal, sudah ada 77 spesies pari yang masuk dalam database IUCN (2013), yang terdiri atas enam spesies yang telah dikategorikan terancam keberadaanya, satu spesies dalam kondisi kritis, 11 spesies dalam kondisi rentan, dan delapan spesies dalam kondisi beresiko rendah. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui spesies pari layang-layang yang didaratkan dari salah satu TPI Tarakan yaitu melalui metode molekuler. Melalui penelitian ini diharapkan dapat digunakan dalam rangka mengontrol dan menghindari misidentifikasi spesies pari ke depannya.

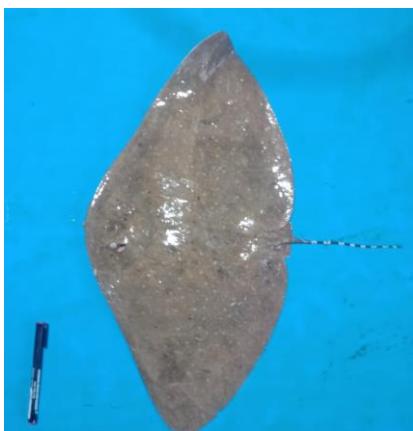
METODE PENELITIAN

Sampel pari diperoleh dari TPI Gunung Lingkas Kota Tarakan, Kalimantan Utara (Gambar 1) pada bulan September 2020. Sampel yang digunakan berupa potongan kecil sirip pari layang-layang (Gambar 2). Isolasi dan amplifikasi sekuen mtDNA COI dilakukan di Laboratorium Genetika PT. Genetika Science Indonesia dan proses sekruensi dilakukan pada perusahaan jasa genetika 1st Base Singapore.

Ekstraksi dan amplifikasi DNA. Ekstraksi mtDNA sampel menggunakan metode *ZR Tissue & Insect DNA Miniprep Kit* [12]. Ekstrak DNA berasal dari potongan kecil tubuh pari. Jaringan otot dihancurkan kemudian dilisis menggunakan *lysis solution* 750 µL. Pemisahan dan pemurnian DNA dari bahan organik lain selanjutnya mengikuti petunjuk *Quick-DNA Tissue/Insect Miniprep Kit* [12]. Amplifikasi gen COI dari genom mitokondria kemudian diamplifikasi menggunakan empat primer *cocktail* berdasarkan *Canadian Center for DNA Barcoding* (CCDB), 2006 (Tabel 1).



Gambar 1. Lokasi penelitian



Gambar 2. Ikan Pari Layang-layang

Tabel 1. Primer rekomendasi *Canadian Center for DNA Barcoding* (CCDB), 2006

Primer	Sekuen
Forward	VF2_t1 TGTAAAACGACGGCCAG TCAACCAACCACAAAGA CATTGGCAC
	FishF2_t1 TGAAAACGACGGCCA GTGCACTAACATCAAAG ATATCGGCAC
	FishR2_t1 CAGGAAACAGCTATGAC ACTTCAGGGTGACCGAA GAATCAGAA
Reverse	FR1d_t1 CAGGAAACAGCTATGAC ACCTCAGGGTGTCGAA RAAYCARAA

DNA diamplifikasi menggunakan metode PCR dengan pereaksi 2x MyTaq HS Red Mix (Bioline). Total volume yang digunakan untuk amplifikasi yaitu 25 μ l, yang terdiri atas 9,5 μ l ddH₂O, 12,5 μ l 2x MyTaq Red Mix, 1 μ l DNA sampel dan 0,5 μ l volume dari masing-masing

primer 10 μ M. Sekuen mtDNA target diamplifikasi menggunakan *thermal cycle* (Agilent Surecycler 8800) dengan kondisi reaksi sebagai berikut 1 siklus predenaturasi pada suhu 95 °C selama 1 menit, 35 siklus untuk (masing-masing) denaturasi pada suhu 95 °C selama 15 detik, *annealing* pada suhu 52 °C selama 15 detik elongasi pada suhu 72 °C selama 45 detik, dan 1 siklus perpanjangan akhir pada suhu 72 °C selama 2 menit kemudian didiamkan pada suhu 4 °C selama 5 menit. Metode elektroforesis gel agarosa 1% b/v digunakan untuk menentukan keberhasilan reaksi PCR dengan mengambil 3 μ L sampel hasil PCR dan 3 μ L DNA ladder (marker) 100 pb dimasukkan ke dalam sumur yang terbentuk dari sisir dan dijalankan dalam buffer TBE (Tris-Boric Acid-EDTA) 1x pada tegangan 120 V selama 20 menit yang dilanjutkan dengan visualisasi pada alat UV Transiluminator (Gel Doc) [13].

Penentuan urutan dan analisis data sekuen mtDNA COI sampel. Produk PCR diskuensing dengan metode Sanger (*bidirectional sequencing*) dengan menggunakan jasa perusahaan genetika 1st Base Singapore. Data hasil sekruensing gen mtDNA COI pari yang diperoleh kemudian dianalisis dengan menggunakan aplikasi Sequence scanner v.2.0. Sekuen yang berkualitas buruk kemudian diedit dan di-trim dengan menggunakan aplikasi MEGA versi X [14, 15]. Hasil sekuen dengan primer reverse dilakukan proses *reverse and complement* untuk dipadukan dengan hasil sekuen primer forward. Spesies pari ditentukan berdasarkan informasi sekuen basa nukleotida melalui dua *database* publik yaitu Bank Gen dan BOLD (Barcode of Life Database). Pada Bank Gen dilakukan analisis BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) yaitu membandingkan sekuen mtDNA CO1 sampel dengan *database* sekuen DNA yang terdapat pada Bank Gen dengan mengakses www.blast.ncbi.nlm.nih.gov. Indikator hasil BLAST yang digunakan dalam menentukan sekuen paling mirip, yaitu: Query Coverage dan Ident mendekati 100%, e-value mendekati 0, serta Max Score dan Total Score sama pada setiap database [16]. Persentase tertinggi hasil analisis BLAST kemudian dibandingkan dengan skor persentasi kemiripan pada hasil pencarian BOLD-IDS (BOLD Identification System) [17].

Konstruksi pohon filogenetik dibuat dengan mengambil data sekuen yang memiliki kemiripan paling tinggi dari dua *database* tersebut kemudian disejajarkan (*alignment*)

dengan sekuen sampel. Penjajaran sekuen dilakukan dengan menggunakan program CLUSTAL-W yang terintegrasi di dalam aplikasi MEGA-X. *Taeniura lynma* (genbank accession ID: NC 026210.1) digunakan sebagai *outgroup*. Konsistensi hasil pohon filogenetik diukur dengan tiga metode analisis yaitu *Neighbor-Joining* (NJ) [14, 18, 19, 20], *Maximum Likelihood* (ML) [14, 20], dan *Minimum Evolution* (ME) [14, 18-22] dengan *bootstrap test* masing-masing 1000 kali pengulangan dan jarak evolusi dihitung dengan metode Kimura-2-parameter (K2P). Jarak diversitas genetik juga dihitung dengan metode K2P yang telah terintegrasi dalam aplikasi MEGA versi X [23]. Status konservasi pari ray-T2 ditentukan secara *online* dengan mengakses website IUCN (International Union for Conservation of Nature and Natural Resources) pada situs <http://www.iucnredlist.org/>. Demikian juga *trade status* ditentukan secara online dengan mengakses website CITES (Convention on International Trade in Endangered Species) pada situs <http://www.cites.org/> [11].

HASIL DAN PEMBAHASAN

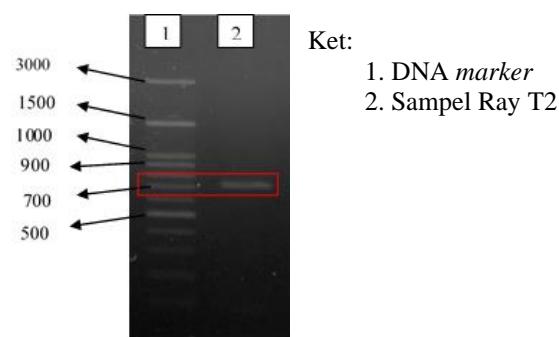
DNA *barcoding* memerlukan urutan DNA sebagai basis data analisisnya sehingga diperlukan proses isolasi DNA sampel. Penelitian ini menggunakan sampel jaringan sirip ikan pari yang diberi kode Ray T2. Ekstrak DNA yang diperoleh kemudian dikuantifikasi menggunakan nanodrop *spectrophotometer* pada panjang gelombang 230, 260 dan 280 nm. Tingkat kemurnian ekstrak DNA dapat ditentukan melalui rasio $A_{260/280}$ dan rasio $A_{260/230}$ dengan nilai mendekati angka 2 dan konsentrasi $>5 \text{ ng}/\mu\text{l}$. Nilai ini merupakan nilai acuan untuk berlangsungnya reaksi PCR dengan baik. Hasil kuantifikasi ekstrak sampel telah memenuhi nilai standar yang diperlukan dalam reaksi PCR seperti yang ditampilkan pada Tabel 2 [15].

Tabel 2. Data kuantitatif hasil ekstraksi gen mtDNA sampel

Kode Sampel	Konsentrasi (ng/ μl)	$A_{260/280}$	$A_{260/230}$
Ray-T2	191.0	2.00	2.21

Produk PCR yang diperoleh terkonfirmasi adanya pita tunggal. Pita DNA yang diperoleh berukuran ~ 700 pasang basa/*base pair* (bp). Nilai ini diperoleh dengan membandingkan pita

DNA sampel dengan DNA *marker* yang telah diketahui ukuran pita DNA-nya [24].



Gambar 2. Visualisasi produk amplifikasi PCR

Produk amplifikasi PCR yang diperoleh kemudian dianalisis lanjut dengan melakukan pembacaan urutan sekuen gen mtDNA COI dengan metode Sanger *bi-sequencing*. Adapun urutan sekuen gen mtDNA COI Ray-T2 ditampilkan pada Tabel 3. Dari hasil sekruensing diperoleh panjang basa sekitar 558 bp, hasil ini telah sesuai dengan ukuran pita DNA hasil PCR pada Gambar 2. Selisih pasang basa antara hasil sekruensing dengan pita DNA disebabkan adanya proses *trimming* dalam pengolahan data hasil sekruensing.

Penentuan jenis ikan target dilakukan dengan membandingkan sekuen mtDNA COI sampel dengan dua *database* gen COI yaitu dengan menggunakan program *The BOLD Identification System* (IDS) pada *database* BOLD

(https://www.boldsystems.org/index.php/IDS_IdentificationRequest) dan BLAST pada data Bank Gen

(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Hasil analisis BLAST dan IDS ditampilkan pada Tabel 4 dan 5. Terdapat perbedaan hasil pencocokan sekuen COI dari kedua program ini. Pencocokan yang sama hanya terdapat pada *Gymnura* (sinonim dari *Aetoplatea*) *zonura* dan *Gymnura* sp., hanya saja pada *Gymnura* sp. memberikan nilai similaritas yang berbeda. Sedangkan hasil lainnya tidak sama. Namun dari hasil pencocokan ini dapat disimpulkan bahwa sampel memiliki kemiripan 99.80% dengan *G. zonura*, sehingga dapat disimpulkan bahwa sampel berjenis *Gymnura zonura*. Hal ini sesuai penjelasan dari [17] yang mengemukakan bahwa nilai kemiripan pada rentang 98% - 100% menjelaskan tentang homologi sekuen pada tingkat spesies.

Berdasarkan analisis filogenetik dengan menggunakan metode *Neighbor-Joining* (NJ),

Maximum Likelihood (ML), dan *Minimum Evolution* (ME) diperoleh hasil sampel Ray T2 konsisten berkerabat dekat (monofiletik) dengan *G. (Aetoplatea) zonura*, dan *G. cf zonura* dengan dukungan nilai *bootstrap* (1000 pengulangan) masing-masing mencapai 100% (Gambar 3). Ketiga hasil analisis filogenetik ini memberikan hasil yang baik karena konsisten memisahkan antar spesies pada *clade* yang berbeda. Bahkan *outgroup* *Taeniura lynma* secara jelas terpisah jauh dari genus *Gymnura*. Konsistensi pengelompokan Ray T2, *G. (Aetoplatea) zonura*, dan *G. cf zonura* didukung

pula oleh nilai jarak genetik yang paling rendah yaitu 0.002 ± 0.002 (Tabel 6). Artinya, perbedaan basa DNA antara Ray T2 terhadap dua kerabat terdekatnya yaitu 2 basa dari 1000 basa. Jarak genetik terjauh terletak pada Ray T2 dengan *Taeniura lynma* yaitu 0.199 ± 0.024 . Hal ini dikarenakan perbedaan pada level *family*. Hasil analisis filogenetik dan jarak genetik ini memperkuat kesimpulan bahwa sampel Ray T2 merupakan *G. (Aetoplatea) zonura*.

Tabel 3. Sekuen mtDNA COI sampel Ray T2

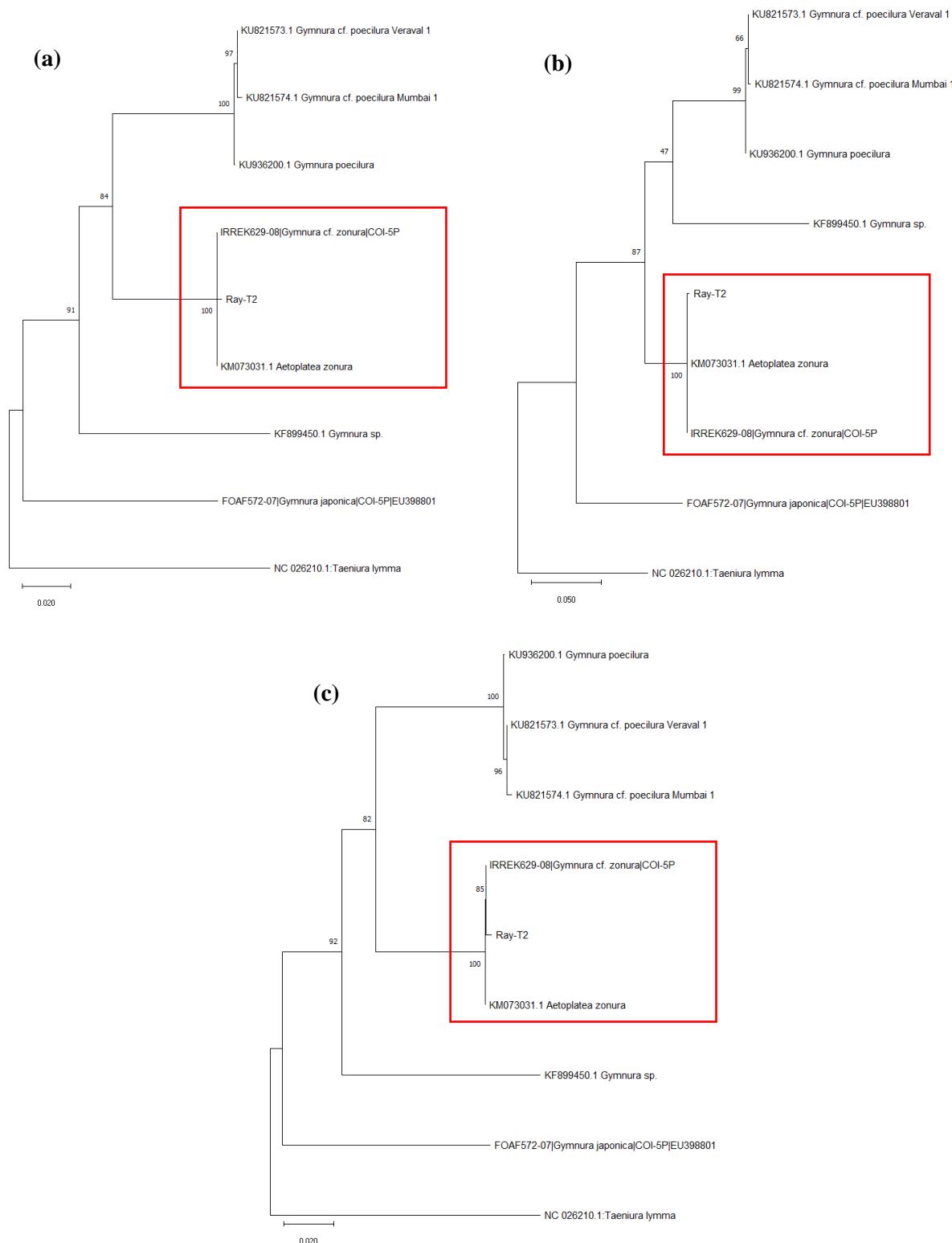
Kode Sampel	Sekuen mtDNA COI											
	10	20	30	40	50	60						
1	GATAGAGGAT	GGGGTCGCCA	CCCCCTGCAG	GGTCGAAGAA	AGTTGTGTTA	AGATTGCGGT						
	70	80	90	100	110	120						
61	CTGTGAGAAC	CATACTAATG	CCTGCTGCTA	GAACGGGGAG	GGAGAGGAGA	AGAAGAAATGG						
	130	140	150	160	170	180						
121	TCGTGATAAG	GATGGATCAA	ACAAAAAAGGG	GAGTTTGATA	TTGGGAAATC	GCTGGGGTT						
	190	200	210	220	230	240						
181	TTATATTAAT	GACTGTGGTG	ATAAAAGTTAA	TTGATGCTAG	GATTGAGGAG	ACTCCTGCTA						
	250	260	270	280	290	300						
241	GGTGGAGGGGA	AAAGATGGTT	AGGTCAACTG	ATGCTCCGGC	ATGCGCTAAG	TTGCCTGCTA						
	310	320	330	340	350	360						
301	GTGGAGGGTA	AACTGTTCAAG	CCTGTCGGCG	CCCCAGCTTC	TACTCCCGCT	GAGGCTAGTA						
	370	380	390	400	410	420						
361	ATAGGAGAAA	GGAGGGGGGG	AGAAGTCAGA	AGCTTATGTT	ATTATATTGCG	GGGAAGGCCA						
	430	440	450	460	470	480						
421	TGTCTGGGGC	ACCAATCATT	AGGGGGACCA	GTCAGTTCC	GAACCCGCCG	ATCATGATCG						
	490	500	510	520	530	540						
481	GTATAACTAT	AAAGAAGATT	ATTACAAAGG	CATGGCGGT	GACAATGACT	TGTAGACTTG						
	550											
541	ATCATCACCT	AGTAGGGC										

Tabel 4. Hasil analisis BLAST DNA sampel

Organisme	Query cover	e-value	% kemiripan	No. akses
<i>Aetoplatea zonura</i> isolate GZON2	100%	0.0	99.80%	KM073031.1
<i>Gymnura poecilura</i>	99%	0.0	90.93%	KU936200.1
<i>Gymnura cf. poecilura</i> veraval	99%	0.0	90.73%	KU821573.1
<i>Gymnura cf. poecilura</i> mumbai	99%	0.0	90.52%	KU821574.1
<i>Gymnura</i> sp.	96%	8e-156	87.73%	KF899450.1

Tabel 5. Hasil penelurusan dengan BOLD-IDS

Family	Genus	Species	Similarity	Status
Gymnuridae	<i>Gymnura</i>	<i>zonura</i>	99.8	Published
Gymnuridae	<i>Gymnura</i>	<i>japonica</i>	99.8	Published
Gymnuridae	<i>Gymnura</i>	<i>cf zonura</i>	99.8	Published
Gymnuridae	<i>Gymnura</i>	sp.	99.59	Published



Gambar 3. Hasil analisis filogenetik menggunakan metode: (a) NJ (b) ML (c) ME. Jarak evolusi dihitung menggunakan metode Kimura 2-parameter dan dalam satuan jumlah substitusi basa per situs

Tabel 6. Estimasi jarak genetik antar sekuen

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1		0,002	0,015	0,015	0,016	0,002	0,021	0,019	0,024
2	0,002		0,015	0,015	0,016	0,000	0,021	0,018	0,023
3	0,096	0,094		0,002	0,003	0,015	0,022	0,019	0,023
4	0,099	0,096	0,002		0,002	0,015	0,023	0,019	0,023
5	0,101	0,099	0,004	0,002		0,016	0,023	0,019	0,023
6	0,002	0,000	0,094	0,096	0,099		0,021	0,018	0,023
7	0,163	0,160	0,175	0,178	0,181	0,160		0,023	0,023
8	0,140	0,137	0,145	0,142	0,145	0,137	0,183		0,025
9	0,199	0,196	0,201	0,198	0,198	0,196	0,196	0,218	

Ket: angka berwarna biru (diagonal atas) merupakan estimasi nilai standar eror yang diperoleh melalui prosedur *bootstrap* 1000 ulangan. Analisis jarak genetik menggunakan model Kimura-2-parameter.

1. Ray-T2
2. KM073031.1 Aetoplatea_zonura
3. KU936200.1 Gymnura poecilura
4. KU821573.1 Gymnura cf. poecilura Veraval 1
5. KU821574.1 Gymnura cf. poecilura Mumbai_1
6. IRREK629-08|Gymnura cf._zonura|COI-5P
7. FOAF572-07|Gymnura_japonica|COI-5P|EU398801
8. KF899450.1 Gymnura sp.
9. NC026210.1 Taeniura lymma

Informasi dari *database* BOLD dilaporkan terdapat 26 data sekuen *G. zonura* yang tersimpan di dalam sistem, 15 di antaranya bersifat publik dan sisanya bersifat pribadi (*unpublished*). Dari 15 data, 10 data berasal dari Indonesia dengan sebaran: enam data sekuen bersumber dari Jawa Tengah, dan empat sisanya dilaporkan dari Bali.

Berdasarkan IUCN, spesies *G. zonura* yang muncul sebagai sinonim *A. zonura* di laman IUCN terkategori *vulnerable* artinya status konservasi diberikan kepada spesies yang sedang menghadapi risiko kepunahan di alam. Selanjutnya masih dalam penjelasan IUCN, spesies ini relatif cukup tinggi menjadi tangkapan dari alat tangkap *gillnet* di Indonesia, khususnya di perairan Jawa Tengah dan Selatan Bali sehingga populasi, utamanya dari spesies dewasa, memiliki tren yang menurun dari tahun ke tahun. Kategori *G. zonura* pada CITES masih dalam posisi belum terevaluasi.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sampel pari layang-layang yang diidentifikasi dari TPI Gunung Lingkas, Tarakan, Kalimantan Utara dengan menggunakan pendekatan DNA *barcoding* adalah spesies *Gymnura (Aetoplatea) zonura*. *G. zonura* terkategori *vulnerable* (vu) di laman IUCN yang berarti spesies ini sedang menghadapi risiko kepunahan di alam. Kategori *G. zonura* pada CITES masih dalam posisi belum terevaluasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih diucapkan kepada Dr. Muhammad Firdaus atas diskusinya selama

penulisan manuskrip, Azwar Amiruddin atas bantuananya dalam mendesain peta lokasi penelitian, dan Universitas Borneo Tarakan atas dukungan finansialnya melalui Dana DIPA PNBP Universitas Borneo Tarakan tahun 2020.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Cedrola PV, González AM, Chiaramonte GE, Pettovello AD (2012) Bycatch of sharks (Elasmobranchii) in the Patagonian red shrimp *Pleoticus muelleri* (Bate, 1888) fishery. Rev. del Mus. Argentino Ciencias Nat. Nueva Ser. 14: 349–356.
- [2] Dulvy NK, Fowler SL, Musick JA, Cavanagh RD, Kyne PM, Harrison LR, Carlson JK, Davidson LNK, Fordham SV, Francis MP, Pollock CM, Simpfendorfer CA, Burgess GH, Carpenter KE, Compagno LJV, Ebert DA, Gibson C, Heupel MR, Livingstone SR, Sanciangco JC, Stevens JD, Valenti S, White WT (2014) Extinction risk and conservation of the world's sharks and rays. Elife 3: 1–34.
- [3] Graham RT, Witt MJ, Castellanos DW, Remolina F, Maxwell S, Godley BJ, Hawkes LA (2012) Satellite tracking of manta rays highlights challenges to their conservation. PLoS One 7 (5): e36834.
- [4] White WT, Last PR (2012) A review of the taxonomy of chondrichthyan fishes: A modern perspective. J. Fish Biol. 80: 901–917.
- [5] Veríssimo A, Cotton CF, Buch RH, Guallart J, Burgess GH (2014) Species diversity of the deep-water gulper sharks (Squaliformes: Centrophoridae: Centrophorus) in North Atlantic waters - current status and taxonomic issues. Zool. J. Linn. Soc. 172: 803–830.
- [6] Hebert PDN, Cywinski A, Ball SL, DeWaard JR (2003) Biological identifications through DNA barcodes. Proc. R. Soc. B Biol. Sci. 270: 313–321.
- [7] Hebert PDN, Penton EH, Burns JM, Janzen DH, Hallwachs W (2004) Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 101: 14812–14817.
- [8] Hubert N, Hanner R, Holm E, Mandrak NE, Taylor E, Burridge M, Watkinson D, Dumont P, Curry A, Bentzen P, Zhang J, April J, Bernatchez L (2008) Identifying Canadian freshwater fishes through DNA barcodes. PLoS ONE 3(6): e2490.
- [9] Ward RD, Holmes BH, White WT, Last

- PR (2008) DNA barcoding Australasian chondrichthyans: Results and potential uses in conservation. *Mar. Freshw. Res.* 59: 57–71.
- [10] Ruocco NL, Lucifora LO, Astarloa JMD, De Mabragaña E, Delpiani SM (2012) Morphology and DNA barcoding reveal a new species of eagle ray from the Southwestern Atlantic. *Zool. Stud.* 51: 862–873.
- [11] Madduppa H, Ayuningtyas RU, Subhan B, Arafat DP (2016) Exploited but Unevaluated: DNA barcoding reveals skates and stingrays (Chordata, Chondrichthyes) species landed in the Indonesian Fish Market. ILMU Kelaut. Indones. J. Mar. Sci. 21: 77.
- [12] Zymo Research D. Quick - DNA™ Tissue / Insect Miniprep Kit. 0–4.
- [13] Sulistiowati S, Madduppa H (2020) Identifikasi *Scatophagus argus* yang dipasarkan di Jakarta berdasarkan analisis morfologi dan DNA barcoding. *J. Kelaut. Trop.* 23: 373–380.
- [14] Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K (2018) MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evol.* 35: 1547–1549.
- [15] Gaffar S, Sumarlin S (2020) Analisis sekuen mtDNA COI Pari Totol Biru yang didaratkan di Tempat Pendaratan Ikan Kota Tarakan. *J. Harpodon Borneo* 13: 80–89.
- [16] Tindi M, Mamangkey NGF, Wullur S (2017) The DNA barcode and molecular phylogenetic analysis several Bivalve species from North Sulawesi Waters based on COI gene. *J. Pesisir dan Laut Trop.* 1 (2): 32–38.
- [17] Bhattacharjee MJ, Laskar BA, Dhar B, Ghosh SK (2012) Identification and re-evaluation of freshwater catfishes through DNA barcoding. *PLoS One* 7: e49950.
- [18] Saitou N, Nei M (1987) The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4: 406–425.
- [19] Felsenstein J (1985) Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution (N.Y.)* 39: 783.
- [20] Kimura MA (1980) Simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.* 16: 111–120.
- [21] Rzhetsky A, Nei MA (1992) Simple method for estimating and testing minimum-evolution trees. *Mol. Biol. Evol.* 9: 945–967.
- [22] Nei M, Kumar S (2000) Molecular evolution and phylogenetics. Oxford University Press. Oxford.
- [23] Ude GN, Igwe DO, Brown C, Jackson M, Bangura A, Ozokonkwo-Alor O, Ihearah OC, Chosen O, Okoro M, Ene C, Chieze V, Unachukwu M, Onyia C, Acquaah G, Ogbonna J, Das A (2020) DNA barcoding for identification of fish species from freshwater in Enugu and Anambra States of Nigeria. *Conserv. Genet. Resour.* 12: 643–658.
- [24] Sumarlin S, Yovilan Moq C, Gaffar S, Haryono MG (2020) Amplifikasi gene mtDNA CO1 Muraenesocidae dari perairan Kota Tarakan dengan teknik PCR. *J. Harpodon Borneo* 13 (2): 54–60.